中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）33(4)：387～394（1984）

二氧化硫對作物細胞構造之影響[1]

陳 美 華[2]

摘要 二氧化硫爲本省三種空氣污染物（二氧化硫、氯氣及氟化物）之一。其對作物爲害徵狀，一般多爲葉脈間脫色壞疽之塊斑或條斑，受害部位初期多呈灰綠色水漬狀，至後期則氧化漂白成象牙色或呈褐色、紅褐色、紅色和黃綠色，且葉片有的出現捲縮現象。本研究之目的，在探討作物受空氣污染爲害，所產生外表徵狀，對於內部細胞構造之影響。

不同種類的作物，包括甕菜、白菜、葱、甘藷、胡瓜、綠豆、香蕉、甘蔗及煙草等，在相同環境條件下：溫度（晝12小時 25°C ，夜12小時 20°C），相對溼度（約70%左右），光照度（7000 Lux），經一系列不同二氧化硫氣體濃度與薰蒸時間處理後，觀察作物受害徵狀，並做病理解剖檢視，結果發現葉片呈灰綠色水漬狀病斑或形成脫色壞疽，其主要係因葉綠體受二氧化硫侵襲而破壞，此不但使光合作用受到抑制，間接地也破壞或影響其他色素形成；同時細胞內亦發生一些現象如：葉綠體內的葉綠餅（grana stack）腫脹，葉綠餅與葉綠層（stroma lamella）瓦解，基質顆粒化，細胞質破壞，澱粉粒及嗜鋨脂肪小球堆積，細胞膜與細胞壁剝離等。海綿組織與栅狀組織則更因二氧化硫爲害，先後遭破壞崩解，失去原有結構；受害嚴重時，不但難分辨兩組織且上下表皮幾乎癱連一起，而使外觀呈漂白半透明的壞疽病斑。

二氧化硫（SO_2）是歷史最久且被研究最多的污染物，也是危害本省作物的主要污染源之一。其主要來源有（1）燃燒重油（含 S 量1－4％）、生煤（含 S 量2％）；（2）車輛。尤其是柴油車，因柴油約含1.25%的硫；（3）硫酸製造。臺灣一般硫酸製造廠，先把硫磺燃燒後產生 SO_2，再轉化成 SO_3，而後用水吸收製造硫酸，若操作不當，則大量溢出 SO_2 氣體；（4）金屬熔煉廠。提煉銅礦時，因含硫量較高，會產生大量 SO_2 氣體。[1]

SO_2 對植物爲害的徵狀差異，除與 SO_2 濃度，薰氣時間，植物種類有關外，尚受其他因素之影響如：溫度、相對溼度、土壤含水量、光照強度、營養供給及植株組織年齡等。[6-9] 在許多研究中指出[2,10-17]，植株受到 SO_2 爲害會產生急性傷害（acute injury）及慢性傷害（chronic injury）兩種徵狀。急性損害的徵狀發生，係因植株突然吸收足够破壞組織的 SO_2 量，而引起葉緣及葉肋間的捲縮或壞疽，受害部位初呈暗綠水漬狀外觀，經脫水與脫菁（bleaching）後漸成象牙白色（ivory-to-white），部分則呈褐色、紅褐色。慢性損害徵狀的發生，則係因植株吸收的 SO_2 量，不足以形成急性損害，僅造成萎黃徵狀（chlorotic symptoms），屬於一種緩慢的脫菁變化，導致葉綠素和胡蘿蔔素被破壞，而葉片在葉緣或葉脈間呈黃化現象（部分則呈白色或紅褐色），在受害部位往往有腫脹的情形。有時慢性損害經長時間後，也會發生與急性損害相似的脫水成白色徵狀，唯未產生葉緣捲縮，且伴有葉柄斷落現象。 Thomas 更認爲尚有第三型態的損害，稱爲不可見損害（invisible injury），主要徵狀是植株的生長減緩與光合作用被抑制。[18] 一些研究報告[3,19-23] 也指出 SO_2 確

1.臺灣省農業試驗所 研究報告第 1187 號。本研究電子顯微鏡方面蒙植保中心（PPC）呂理燊博士及張淳文先生指導協助，復蒙臺大農化系德籍客座教授 Buchholz 博士指導，謹此誌謝。

2.本所農化系助理。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

會使植株光合作用能力降低，呼吸率提高和葉綠素被破壞。少數的研究中[13,24,25]則說明 SO_2 爲害植株，除外觀有明顯症狀外，對細胞構造亦產生異常影響，例如細胞質分解，細胞構造瓦解及葉綠體（chloroplast）變形等。

本省有關空氣污染的研究較缺乏，且大多數引用美日等國資料，這些資料大部分適用於溫帶植物，對本省較不適用。本研究目的，欲了解 SO_2 爲害作物的徵狀與對組織、細胞內微細構造（ultrastrcuture）的影響。

材料與方法

一、供試材料

1.供試植物：甕菜、白菜、葱、甘藷、胡瓜、綠豆、香蕉、甘蔗、煙草等。

2.供試氣體：高濃度鋼瓶裝之 SO_2 與已過濾空氣混合稀釋成濃度 1.1ppm～4.5ppm 之 SO_2 氣體。

二、試驗方法

1.供試植物栽培：除香蕉取自蕉園幼蕉及甘蔗、甘藷採用扦插繁殖外，餘皆採種子播種。栽種於直徑 5－7 吋的塑膠盆（香蕉除外），並以相同比例的泥炭土（peat）及蛭石（Vermiculite）爲盆栽土，根據美國園藝學會基本營養液（½濃度之 Hoagland's solution），使用自動澆水設備供給植物生長所需。

2.薰蒸試驗

(1)薰蒸設備：可控制溫度、溼度、光度的生長箱內設由壓克力玻璃製成薰蒸箱 (120cm×56cm×96cm)，箱內的上方左右兩邊各設有二風扇，使氣體可混合均勻。污染源氣體 SO_2 由鋼瓶經壓力調節器引到氣體混合裝置，與經活性炭過濾器除去雜質的純空氣充分混合後，由 Teflon 管導至薰蒸箱進行試驗。箱內 SO_2 濃度的測定則由 Thermoelectron modle 43 Puked fluorenscent SO_2 analyzer 爲之。

(2)薰蒸步驟：箱內溫度調節爲晝 25°C，夜 20°C 各12小時，相對溼度維持約70%，光照度爲7000Lux。取大小相同之同種植物，由溫室移入薰蒸箱經生長24—48小時適應生長箱內人工環境後，通以污染氣體 SO_2 薰蒸一段時間後，移回溫室，觀察記錄受害情形，並採受害部位做病態解剖研究。

3.植株組織之構造研究

(1)石蜡切片配合光學顯微鏡觀察[4]：將正常及受害葉片，經固定(fixation)→脫水（dehydration）→滲蜡（infiltration）→埋蜡（embedding）→切片（section）→染色（staining）等步驟處理，在光學顯微鏡下觀察葉片橫切面之組織結構，其石蜡切片製作及染色過程如圖（1）、圖（2）所示。

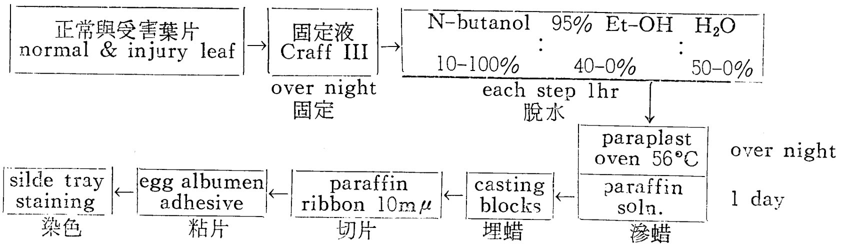


圖1. 石蜡切片製作過程

Fig. 1. Processes of paraffin section

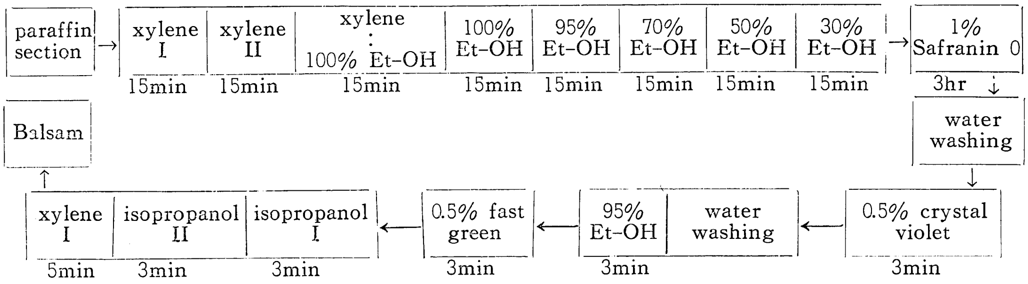


圖2. 石蜡切片染色步驟

Fig. 2. Procedures of paraffin section staining

(2)超薄切片配合電子顯微鏡觀察[26]：取正常與受害葉片部位，處理成細絲，經戊二醛（glutaraldehyde）及鋨酸（osmic acid）固定→乙醇脫水→斯伯氏樹脂（Spurr's Epon）包埋→超薄切片→醋酸鈾醯（uranyl acetate）及檸檬酸鉛（lead citrate）雙重染色→穿透式電子顯微鏡觀察細胞內的微細構造。其步驟如圖(3)、圖(4)所示。

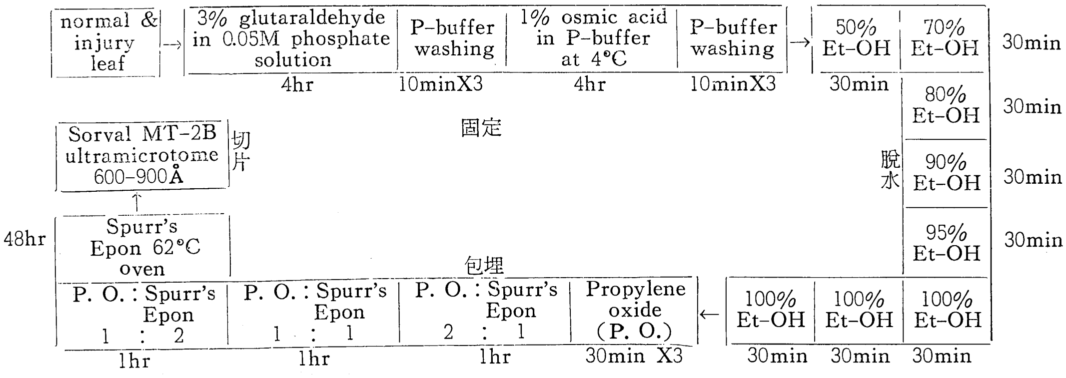


圖3. 超薄切片製作過程

Fig. 3. Processes of ultrathin plastic section

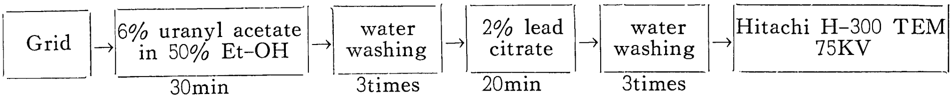


圖4. 超薄切片染色步驟

Fig. 4. Procedures of ultrathin plastic section staining

結果與討論

鑑於植株本身忍受 SO_2 爲害的能力不一，故經一系列不同濃度與薰蒸時間的試驗後，選取各種作物呈明顯受害徵狀處，進行細胞構造研究，並觀察記錄爲害徵狀。

結果發現作物在受到 SO_2 薰害後，出現葉脈間變色（interveinal chlorsis），呈無光澤水漬狀的灰綠色病斑，受害嚴重時更漂白脫水成象牙白色（ivory-to-white）的病斑，如甕菜、葱、白菜、甘蔗、煙草等。有的則呈紅褐色或褐色病斑，如甘藷、胡瓜、甘蔗老葉等。綠豆雖亦呈象牙白色脫水病斑，唯其中心却顯褐色。葉片受害的病斑形狀，在一般植物爲葉脈間的小斑點或塊斑，或在葉緣形成脫水病斑，有時在葉尖呈捲縮，如煙草；但在單子葉植物如甘蔗則形成與葉脈平行的條斑。這些病

斑出現後，若外界溫度較高或時間再隔久後觀察，則出現壞疽（necrosis），使組織變薄或脫水成半透明外觀，到末期更出現未成熟的葉子提前自葉柄基部脫落。植株在受害後會有不同徵狀出現，係視植物種類、薰蒸濃度及時間長短而定。

當進一步將這些病斑與壞疽部位經組織檢查（histological examination），則由橫切面可發現正常未經 SO_2 處理過的葉片，在海綿組織與柵狀組織葉綠體的顆粒清晰可見（圖5）。因光合作用，主要藉著葉綠體進行，故大量的葉綠體存於葉肉細胞中，將可加强光合作用效率。而經 SO_2 處理外觀呈暗綠色水漬狀病斑的葉片，則發現海綿組織與柵狀組織先後遭破壞分解成碎片，甚至空化（圖6）。至於海綿組織較先受害，可能因其與氣孔相鄰，爲葉片的氣體交換場所，最先與 SO_2 接觸而被破壞之故。SO_2 經氣孔進入葉肉細胞後，即被氧化成高毒性的 SO_3（sulfite），再緩慢地被氧化成毒性較低的 SO_4（sulfate），最後被細胞予以中性化。植株若吸入過多量的 SO_2，却來不及將已氧化的 SO_3 轉化成毒性較低的 SO_4，再被中和時，將造成急性傷害；但若 SO_2 吸入較緩且濃度較低時，則植株體內的 SO_4 的堆積亦較未受 SO_2 薰害的同種植株爲高，引起 SO_4 的慢性傷害。[28]

而植株受害嚴重，形成組織外觀的漂白脫水的壞疽時，其橫切面顯示不但葉肉細胞的組織不易分辨清楚，且上下表皮崩解一起（圖7）。

由於甘蔗係屬於 C_4 植物其橫切面構造不同於一般 C_3 植物，除了葉肉細胞（mesophyll cells）外，尙傍有脈鞘細胞（bundlesheath cells），圍在維管束四周，經 SO_2 爲害的甘蔗葉，由橫切面觀察到葉肉細胞部分被破壞分解，並擠向脈鞘細胞，但脈鞘細胞却無明顯破壞的情形（圖8左側）。

利用電子顯微鏡檢視植株細胞內微細構造（ultrastructure），在正常的葉片細胞中，有很大液胞（vacuole-V），而緊鄰細胞壁（cell wall-CW）的原生質膜（plasmalema-Pl）則將葉綠體有如三明治似地限制於液胞膜（tonoplast-T）與其間。在葉綠體內則見排列整齊的葉綠餅（grana-G）及些許嗜餓脂肪小球（osmiophilic lipid globules-L）（圖9）。葉片初呈受害的輕微徵狀，其葉綠體（chloroplast-Ch）發生變形現象，葉綠餅的構造消失，且葉綠囊（thylakoids-Th）構造伸長；另澱粉顆粒（starch grains-S）也有堆積情形（圖10）。當受害情況較嚴重時，則發現葉綠餅（G）膨大鬆散且與葉綠層（stromal lamellae 或 fret-F）有疏離的現象，有些葉綠體則有扭曲變形的情形，脂肪小球（L）與澱粉粒（S）堆積的情形更嚴重了，此外細胞質和原生質膜也被破壞分

圖片說明：

圖5 正常葱葉橫切面（X300）

Fig. 5. Cross-section of normal leaf from welsh onion (X300)

圖6 受害胡瓜葉初呈暗綠色水漬病斑之橫切面（X150）

Fig. 6. Cross-section of dull-green, water-soaked injuried leaf from cucumber (X150)

圖7 受害香蕉葉呈象牙白色脫水壞疽之橫切面（X150）

Fig. 7. Cross-section of ivory-to-white necrosis injuried leaf from tobacco (X150)

圖8 甘蔗葉處理後受害與未受害之橫切面比較（X150）

Fig. 8. Comparision of cross-section between injuried and uninjuried SO_2-treated leaf from sugar cane (X150)

圖9 正常葱葉之電子顯微鏡構造圖（X20,000）

Fig. 9. Electron micrograph of normal leaf from welsh onion (X20,000)

圖10 甘藷葉初呈受害徵狀之細胞微細構造（X20,000）

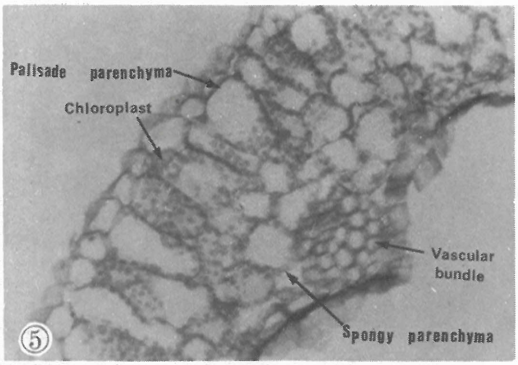
Fig. 10. Ultrastructures of SO_2-injuried leaf from sweet potato at first step (X20,000)

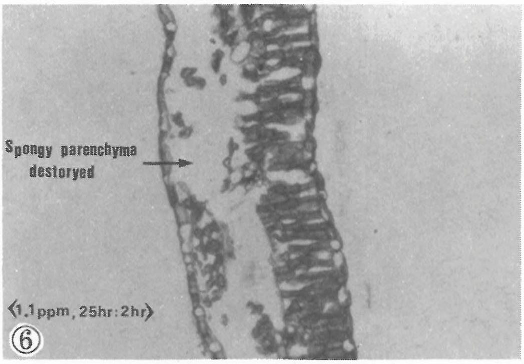
圖11 受害徵狀較嚴重之葱葉微細構造（X20,000）

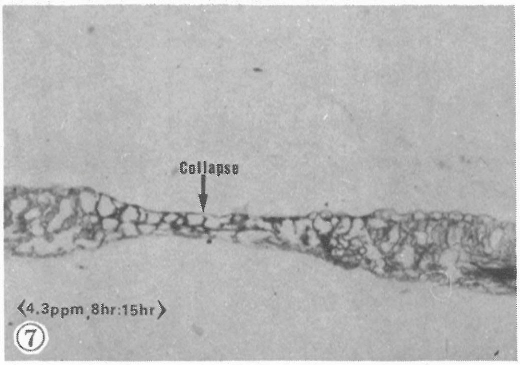
Fig. 11. Ultrastructures of more serious injuried leaf from welsh onion (X20,000)

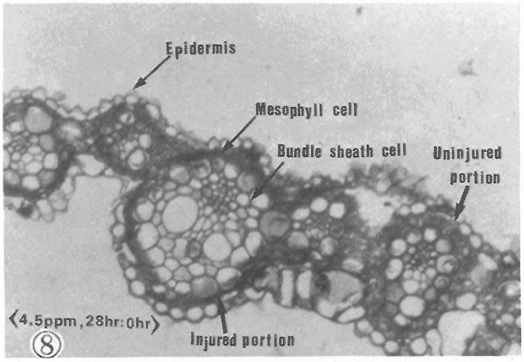
圖12 煙草葉受害末期脫水壞疽之細胞微細構造（X20,000）

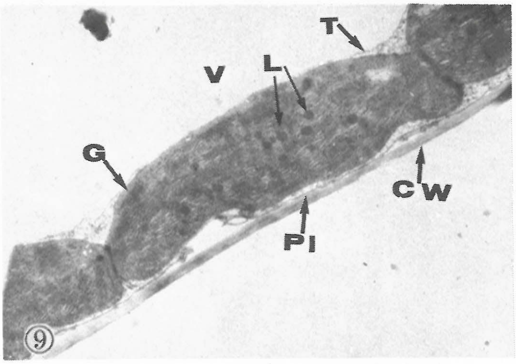
Fig. 12. Ultrastructures of dehydrated, necrotic leaf from tobacco (X20,000)

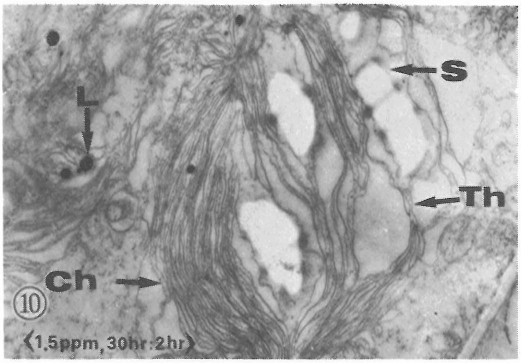

Palisade parenchyma
Chloroplast
Vascular bundle
Spongy parenchyma
⑤

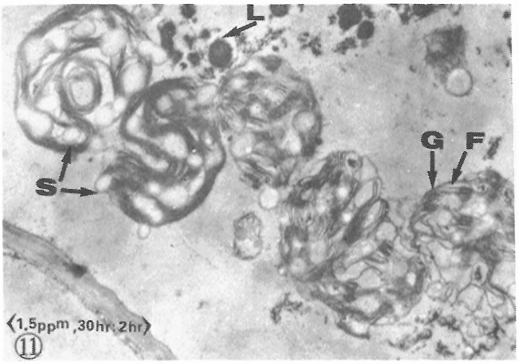

Spongy parenchyma destoryed
〈1.1ppm, 25hr: 2hr〉
⑥

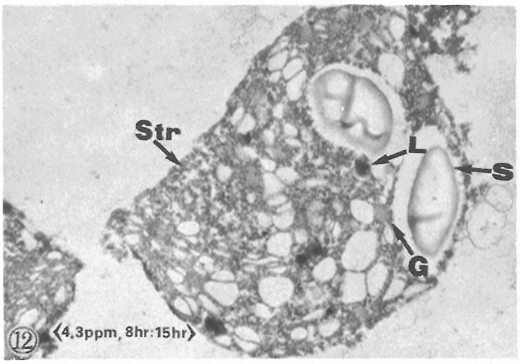

Collapse
〈4.3ppm, 8hr:15hr〉
⑦


Epidermis
Mesophyll cell
Bundle sheath cell
Uninjured portion
〈4.5ppm, 28hr: 0hr〉
Injured portion
⑧


T
V
L
G
CW
Pl
⑨


S
L
Th
Ch
⑩
〈1.5ppm, 30hr: 2hr〉


L
S
G
F
〈1.5ppm, 30hr: 2hr〉
⑪


Str
L
S
G
〈4.3ppm, 8hr:15hr〉
⑫

解（圖11）。在受害末期呈脫水漂白時，則見細胞胞器（organelles）多呈嚴重支解破碎，葉綠基質（stroma-Str）凝聚顆粒化；葉綠餅因膨大，而使得葉綠囊間的空隙變大，形成無數的小囊（vesicles）（圖12）。

植株受到 SO_2 薰害後，因葉綠體被破壞了，所以嵌在其上的葉綠素亦同時遭破壞，並間接地影響其他色素形成，而呈褪綠色甚至紅褐色，黃綠色等病斑。

在植物體內，脂質（lipid）常被貯存做為構成細胞中膜（membrane）之組成元素之一。當植物本身需要大量能量時，尚可轉換分解，供給所需，例如植株子葉即可藉過氧化酵素體（proxisome或稱 microbodies, glyoxysome）等，將脂質轉化成能量。葉綠囊（thylakoid）的雙層膜即由蛋白質一脂質一色素的複合物所組成，因此當葉綠體遭 SO_2 破壞時，則使囊膜中脂質分解成脂肪小球而堆積起來，同時也使葉綠體轉換成雜色體（chromoplasts）存於細胞器官中。因之脂肪球的堆積或可視爲膜被破壞的一種徵狀。[29]

除了正常甘蔗葉之脈鞘細胞富含澱粉顆粒外，一般受害的植株葉片時有澱粉粒的大量出現，推測其原因，係因分解澱粉的酵素被破壞所致，喪失作用力而使澱粉粒在細胞內形成堆積。[29]

此外在本試驗中，發現在同一條件處理下的不同種類作物，對 SO_2 忍受程度有所不同，因而產生不同受害徵狀，以胡瓜、綠豆、甕菜爲例，前者外觀僅呈輕微脫水的褐斑，不似後兩者受到嚴重的漂白有脫水；同時胡瓜亦較完整的柵狀組織存在，由此可推測胡瓜對於 SO_2 的忍耐度較其他二者爲強。在所有供試作物中，以甘蔗對 SO_2 耐力最大，須以高濃度且長時間處理，才顯受害徵狀。

參考文獻

1.郎咸白，1982，空氣汚染物之形成及其影響。環境科學。2(2)：3—20

2.羅美棧，魏維新，黃孝信，1978，臺灣省空氣汚染影響農業實況調查及空氣汚染區域改善研究工作報告。臺灣省環境衛生實驗所報告。

3.同上，1979。

4.蔡淑華，1972，植物解剖學。國立編譯館。30—48

5.鄭湧涇，1973，光合作用淺說。國立教育資料館主編。79—85

6. Muddy, J. B. & T. T. Kozlowski. 1975b. Responses of plants to air pollution. 9-22, Academic Press Inc., N. Y.

7. Heck, W. W. & S. Brandt. 1977. Air pollution effects on vegetation : Native, crops, forests. In Air Pollution. vol. 2, 158-229. ed. by A. C. Stern. N. Y. Academic Press.

8. Prasad, B. J. & D. N. Rao. 1982. Relative sensitity of a Leguminous and a cereal crop to sulfur dioxide pollution. Environmental Pollution. (series A) 29 ; 57-70.

9. Jacobson, J. S. & A. C. Hill. 1970. Recognition of air pollution injury to vegetation : A pictroial atlas. C1-17. Air Pollution Control Association.

10. Katz, M. & G. A. Ledingham. 1938. Effect of sulfur dioxide on vegation. NRC815, 332-6. Natl. Res. Counc. Can. Ottawa, Ontorio.

11. Taoda, H. 1973b. Effect of air pollution on bryophtes. (I) SO_2 tolerance of bryophytes, Hikobia. 6 : 238-50.

12. Stern, A. C. 1977. Air pollution. 164-7. 3rd ed., Academic Press N. Y.

13. Jager, H. J. & H. Klein. 1977. Biochemical and physiological detection of SO_2 injury to pea plant (Pisum sativum). J. Air Pollution Contr. Ass. 27 : 464-6.

14. Manning, W. J. & W. A. Feder. 1980. Biomonitoring air pollutants with planted. 19-22. Applied Science Published Ltd., London.

15. Olszyk, D. M. & T. W. Tibbitts. 1981. Stomatal response and leaf injury of Pisum sativum L. with SO_2 and O_3 exposure. Plant Physiol. 67 : 539-44.

16. Whitmore, M. E. & P. H. Freer-Smith. 1982. Growth effects of SO_2 and/or NO_2 on woody plants and grasses during spring and summer. Nature, vol. 300, 4, Nov., 55-7.

17. Baker, C. K., M. H. Unsworth & P. Greenwood. 1982. Leaf injury on wheat plants exposed in the field in winter to SO_2. Nature, vol. 299, 9, Sept., 149-50.

18. Thomas, M. D. 1961. Effects of air pollution on plants. In Air Pollution. World Health Organ. Monoger, ser. No. 46 Columbia Univ. Press.

19. Thomas, M. D. 1951. Gas damage to plant. Annual Rev. Plant Physiol. 2 : 293-332.

20. Su, J. W. & C. A. Swanson. 1974. Short term kinetic studies on the inhibition of photosynthesis by SO_2. J. Environ. Qual. 3 : 103-7.

21. Matsuoka, Y. 1978. Injury on rice plants caused by sulfur dioxide and it mechanism. Jap. Agı. Res. Quart. 12 : 183-6.

22. Ormrod, D. P. 1978. Pollution in horticulture. Elesvier Scientifi Publishing Company. N. Y. 104-6.

23. Rao, D. N. & F. Leblance. 1966. Effects of sulfur dioxide on the lichen algae with special reference to chlorophyll. Bryologist. 69 : 69-75.

24. Wellburn, A. R., O. Majernik & F. A. M. Wellburn. 1972. Effects of SO_2 and NO_2 polluted air upon the ultrastructure of chloroplast. Environ. Pollut. 3 : 37—49.

25. Thomson, W. W. 1975. Effects of air pollutants on plant ultrastructure. In Mudd & Kozlowski(ed.) Responses of plants to air pollution. Academic Press.

26. Millonig, G. 1961. A modified procedure for leaf staining of thin sections. J. Biochem. Cytol. 11 : 736-9.

27. Ledbetter, M. C. & K. R. Porter. 1970. Introduction to fine structure of plant cells. Spring-Verlag Berlin-Heidelberg. 133-45.

28. Lacasse, N. L. and M. Treshaw (eds.) 1978. Diagnosing vegetation injury caused by air pollution. U. S. Environmental Protection Agency Handbook.

29. Ch. Hecht-Buchholz. 1984. Personal communication.

Effects of Sulfur Dioxide on Organelles of Crops[1]

M. H. Chen[2]

Summary

Sulfur dioxide is one of the main pollutants in Taiwan. The symptoms of injury always show interveinal necrosis with water-soaked green, ivory-to-white, brown, reddish-brown and black. This study was aimed to indentify the effects of those symptoms on cell structure and organelles.

Experiments were conducted with crops under the same environmental factors (temperature, relative humidity and intensity) and different gas concentration, and exposure time. The crops included : water convolvulus, welsh onion, sweet potato, cucumber, mung bean, banana, sugar cane and tobacco. Examing the cross-section and ultrastructre of leaf cells in injury portion usually revealed : spongy parenchyma and palisade parenchyma collapsed, structure lost, chloroplasts deformed, grana stacks swollen, grana and lamellae disorganized, stroma granulated, strach granules and osmiophilic lipid globules accumulated, cytoplasma disintergrated, plasmalema deformed.

---

1. Contribution No. 1187 from Taiwan Agriculatural Research Institute. Thanks due to Dr. L. S. Leu & Mr. C. W. Chang of Plant Protection Center and Dr. Ch. Hecht-Buchholz of visiting professor in Taiwan University in assisting electron microscopy.

2. Researsh assistant, Department of Agricultural Chemistry, TARI, Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan 431, R. O. C.